

特 許 公 報

⑨ 公告 昭和48年(1973)11月14日

発明の数 1

(全4頁)

1

⑩ 飯米の食味改善に有効な酵素剤の製造法

⑪ 特 願 昭45-45883

⑫ 出 願 昭45(1970)5月27日

⑬ 発 明 者 出願人に同じ

⑭ 出 願 人 福本寿一郎

宝塚市切畑字長尾山4の227

同 山本武彦

尼崎市琴浦町36

⑮ 代 理 人 弁理士 三枝八郎 外2名

発明の詳細な説明

本発明は酵素作用を利用し飯米の食味改善を図る新規でかつ極めて効果的な酵素剤の製造法であつて、即ち炊飯に際し米及び／又は水への添加剤として枯草菌糖化型 α -アミラーゼ、リゾブス属菌グルコアミラーゼ、及びリゾブス属菌リボ核酸分解酵素を混合使用することを特徴とする、飯米の食味改善に有効な酵素剤の製造法に係るものである。即ち本発明者は日本人の主食である飯米の食味を改善する目的で、炊飯に際し添加して一応有効と予想される各種酵素を試用して実験した結果、上記の実効ある酵素組合せを見出し、特に未だ何人も予測できなかった特種の上記リボ核酸分解酵素を採取精製して上記の如く配合する新規手段により、飯米の風味改善に著効を奏することを発見し、これらの発見により上記の本発明を完成するに至つた。

周知の如く我国では現在過剰米の累積により古米の配合量が年々増大し、食味の劣化、それに伴う消費量の減少、並に越年古米の増加には官民共に重大な関心を払つている所である。またこの為古米の食味を改善したり、低質米の食味を良質米のそれに近づけようとする種々の工夫が各方面で行われつつある。本発明者は永年に亘る酵素類の純化精製とその応用研究とに基づき、飯米成分に当然関係すると考えられるアミラーゼ、プロテア

2

ーゼ、ヘミセルラーゼ、リパーゼ等を夫々極度に精製し、それらの純化酵素標品を単独でまたは配合して米に添加し炊飯する場合、飯米の食味にそれらの酵素剤添加がいかなる作用効果を来たすかについて、感応試験により種々検討した。その結果本発明者は先ずプロテアーゼ、リパーゼ、及びヘミセルラーゼが何れも殆んど無効であるか、或はむしろ悪影響を与えるのに反し、或る種のアミラーゼは炊飯米に対し明かに適当の粘さと光沢とを与え著しく改質することに気付いた。

依つて本発明者は起源の異なる各種アミラーゼに就て、それらの作用効果を詳しく比較検討した結果、枯草菌糖化型 α -アミラーゼと微量のリゾブス属菌グルコアミラーゼとの併用が常に好ましい有意差を示すのに反し、この目的に広く市販されている細菌アミラーゼ即ち枯草菌液化型 α -アミラーゼなどは、その添加により時には軟化が過ぎてむしろ悪影響を与える事実を見出した。而して周知の通り同じく α -アミラーゼと称せられる酵素であつても、それらの作用特異性や蛋白化学的特性はその起源によつて著しく異なるものであるが、本発明者の研究によりこれらの差異に基づいて炊飯米に及ぼす食味改善効果も相違することが見出され、この事実が本発明完成への端緒となつた訳である。即ち各種の α -アミラーゼを夫々単独で米に添加して炊飯した場合、それらの作用効果は非耐熱性でかつ澱粉分解限度の高い α -アミラーゼが常に良好であり、結果的に枯草菌糖化型 α -アミラーゼ>リゾブス属菌 α -アミラーゼ>すいそう α -アミラーゼ>黄麹菌 α -アミラーゼ>枯草菌液化型-及び麦芽 α -アミラーゼの順に有効であり、しかも枯草菌糖化型 α -アミラーゼの特徴としてこのものが適度に非耐熱性であるため、その適量を過ぎて添加した場合でも炊飯米が軟化し過ぎる等の実用的欠点が少いことが判明した。なおこの枯草菌糖化型 α -アミラーゼは市販品(大阪府寝屋川市、上田化学工業株式会社

3

製品 BSA)を使用することができる。

次にリゾプス属菌グルコアミラーゼは澱粉から専らグルコースを遊離させる酵素であつて、特許第453019号(特公昭39-27491)の方法により、リゾプス属糸状菌の培養生産物から酸性プロテイナーゼと分別精製して得られた糖化アミラーゼを意味するが、本発明の目的に対しその添加は常に附加的效果を示すものと見做された。但しこの酵素も70℃以上では容易に失活するので実際の使用量には或る程度の幅を持たせることが出来るにしても、枯草菌糖化型 α -アミラーゼに対し少量の併用で見出された。然しながら上記の如き枯草菌糖化型 α -アミラーゼと、リゾプス属菌グルコアミラーゼとから成る二成分系配合のみでは、未だ定常的な食味改善効果を見出すには至らなかつた。この対策として本発明者は、別途に行つて、リゾプス属糸状菌のプロテアーゼとリボスクレアーゼとの同時分別精製法(特公昭43-59335)で明かにされた、リゾプス属菌の生産するリボ核酸分解酵素即ち上記リボスクレアーゼをも前記両酵素に混合使用して三成分酵素系とすることにより、古来の臭気等が著しく改善されるのみならず新米に適用しても風味が著しく良好になると言う新規事実を発見し、之により飯米の食味改善に有効な新規酵素剤の創製に成功したのである。なお上記リボスクレアーゼ分別精製法は要するにリゾプス属糸状菌の生産するプロテアーゼとリボスクレアーゼとを、その粗酵素液からpH5.2~6.2で且つスルホン酸を活性基とする多孔質フェノール性カチオン交換体を用いて、プロテアーゼ区分とリボスクレアーゼ区分とに分画する方法に係るものである。

本発明に於て添加する酵素量は原料米1kg当り、好ましくは枯草菌糖化型 α -アミラーゼは7500~30000単位、リゾプス属菌グルコアミラーゼは100~400単位、リゾプス属菌リボ核酸分解酵素は500~2000単位で充分である。但しここで言う酵素の単位として、枯草菌糖化型 α -アミラーゼの場合は1%ばれいし澱粉液1mlに作用させ、pH5.0、温度40℃で10分経過後に、その沃度による青色度を10%減少せしめる酵素力価を言い、またリゾプス属菌グルコアミラーゼの場合はpH5.0、温度40℃で

4

毎分1マイクロモルのぶどう糖を生成させる酵素力価を言い、またリゾプス属菌リボ核酸分解酵素の場合はpH5.0、温度40℃で毎分0.1mgの酵母リボ核酸を酢酸ウラン可溶性にまで分解する酵素力価を言う。

本発明による酵素剤の使用法としては水洗米に対し所定の水を配合し、配合の前または後に上記三種の酵素を同時又は別々に加え以後常法の如く炊飯すればよく、この炊飯米は酵素未添加の対照米に比し常に光沢があり、香気のある風味を呈しかつ炊飯米粒が圧縮されず粒毎に適度に膨潤して、いわゆる米粒が立つた好ましい外観を呈することが判つた。本発明では酵素類を極度に精製して配合し、それらの適量を上記の如く添加すればよい訳であるが、この様な純化酵素の直接使用は酵素活性が強力すぎて秤量その他の使用操作上で不便が多く、その為純化した酵素を予め稀釈してその一定量を使用することが通常望ましい。またこの際の稀釈剤としては種々の水溶性無害食品、例えば乳糖、しよ糖、デキストリンなどが何れも利用できるが、特に糯とうもろこし澱粉が最も優れており酵素の貯蔵性も良好であつて、またこれによる炊飯米にも或る程度好ましい影響を与えることが別の研究で判明した。

次に本発明を実施例によつて説明する。

実施例 1

石川県産昭和42年度収穫米を精白して通常の如く洗米加水した後、これに原料白米1kg当り枯草菌糖化型 α -アミラーゼ20000単位、リゾプス属菌グルコアミラーゼ200単位、及びリゾプス属菌リボ核酸分解酵素1000単位の本発明酵素剤を、各酵素単独または同時に添加して炊飯する。炊飯完了時から15分後及び3時間室温放置後、女性2名を含む17人により匂い、食感、及び外観に就ての感応試験を行い、その結果を夫々5点を最高として持点集計した所、下記表1の通りであつた。

5

6

表 1

酵 素	1 5分後			3時間後 食 感
	匂い	食感	外観	
無 添 加	5 2	4 9	6 0	4 5
(1) 枯草菌糖化型 α-アミラーゼ	5 5	6 6	6 5	6 8
(2) 枯草菌液化型 α-アミラーゼ	5 2	5 5	6 0	5 5
(3) リゾーブス属菌 グルコアミラーゼ	5 5	6 0	6 5	6 5
(4) リゾーブス属菌 リボ核酸分解酵素	6 2	5 5	6 0	6 0
(1)+(3)+(4)の 本発明酵素剤	7 2	7 0	7 6	7 4

上表から匂い、食感、外観の総てが優れているものは、(1)+(3)+(4)の配合から成る本発明酵素剤のみであることが判明した。

実施例 2

予め糯とうもろこし澱粉で精製酵素を希釈して、その1g中の枯草菌液化型α-アミラーゼ力価を3000単位とならしめた比較例としての標品(A)、及び枯草菌糖化型α-アミラーゼ3000単位、リゾーブス属菌グルコアミラーゼ40単位、並にリゾーブス属菌リボ核酸分解酵素170単位から成る本発明の標品(B)を調製する。これらの各標品を50gの実施例1の古白米1kg当り10g宛添加して炊飯し、炊飯完了時から15分後及び室温4時間放置後に実施例1と全く同様の感応試験を行った所、下記表2の成績が得られた。

表 2

酵素標品	1 5分後			4時間後	
	匂い	食感	外観	食感	外観
無 添 加	5 1	5 0	5 0	4 9	4 6
A	5 7	5 4	5 5	4 9	4 9
B	7 6	7 2	7 6	7 1	7 2

表2から、従来外米などの改質剤として使用されて来た枯草菌液化型α-アミラーゼを有効成分とする標品(A)使用時に比較し、本発明の酵素配合から成る標品(B)を加えた炊飯米は、総ての性質に互り格段に有効であることが判つた。

なお実施例1及び2で使用した酵素類は下記のものである：

枯草菌糖化型α-アミラーゼ

大阪府寝屋川市、上田化学工業株式会社製品

10 BSA

リゾーブス属菌グルコアミラーゼ

特許第453019号明細書中、実施例1により分別精製して得た糖化アミラーゼ

リゾーブス属菌リボ核酸分解酵素

15 前記特願昭43-59335の実施例1によるリボヌクレアーゼ。この酵素調製法としては、リゾーブス・ニビュース 4759微工研菌寄第1041号)なる糸状菌を撒水度66%の殺菌液に30℃で3日間麹培養し、次いでその麹に3倍量の水を加え常温で1時間浸漬した後圧搾濾過し、その濾液のpHを5.2に調整しながら硫酸を0.3飽和に加え10℃で2時間放置して生ずる沈殿を連続遠心機で除去し、得られる上澄液に更に硫酸を追加して0.75飽和に至らしめ10℃に放置した。一夜後、生じた沈殿をフィルタープレスを用いて捕集し、その沈殿物を約3倍容の水で溶解し、その溶液の含む硫酸根に当量の酢酸カルシウムを、pH5.2に調整し乍ら添加し、生ずる沈殿と上澄液を分ち、沈殿は略々当容の水を加えセライトを用いて濾過し、その濾液を前記上澄液と合した後、3培量の冷イソプロパノールを加え10℃に一夜放置し、生ずる沈殿を遠心分離法で捕集し乾燥した。このものは原料穀1kgより約60gが得られ、1g当りのグルコアミラーゼ、α-アミラーゼ、35 プロテアーゼ、リボヌクレアーゼ活性はそれぞれ4000、60000、40000及び20000単位であつた。なおここに言うリボヌクレアーゼ1単位とは40℃、1分間に0.75%酢酸ラウニル可溶性核酸の生成が260ミリ・ミコー吸収で1.73である時の酵素活性を言う。かくして得た酵素剤よりプロテアーゼとリボヌクレアーゼとを同時分別精製するに当つては、次の如く前処理する。すなわち乾燥酵素剤をM/100酢酸緩衝液pH5.2に10%濃度に溶解し、その500mlを

7

予め pH 5.2 に緩衝化したアミンを活性基とするフェノール性多孔質アニオン交換体の一種であるデュオライト A-2 カラム (2.8 cm 径×43 cm 長) を通過せしめ、 α -アミラーゼ、グルコアミラーゼを素通りさせて除き、プロテアーゼとリボヌクレアーゼはそのカラムに吸着せしめ、次いでそのカラムを M/20 pH 5.2 の酢酸緩衝液の略々当容積で洗滌した後、0.2 規定酢酸 200 ml を流下してリボヌクレアーゼ及びプロテアーゼのみを含む溶液を得る。活性の回収率はリボヌクレアーゼで 50~60%、プロテアーゼで 50~40% であった。次にかく予備精製して得られたプロテアーゼとリボヌクレアーゼを含む溶液の pH を苛性ソーダで pH 5.4 とし、水で約 2.5 倍に希釈した後 (全容 600 ml)、それを予め M/20 酢酸緩衝液で pH 5.4 に緩衝化したスルホン酸を活性基とするフェノール性多孔質カチオン交換体デュオライト C10 のカラム (2.8 cm 径×43 cm 長) を通過せしめた。酵素液の通過後カラムと同容量の M/20 pH 5.4 の酢酸緩衝液を流下してカラムを洗滌し、前の通過液と洗滌液とを合して酵素

8

活性を調べた結果、そこにはプロテアーゼのみが見出され、その活性の回収率は約 40% であったが約 2 倍の比活性の増加が認められた。プロテアーゼの除去後、カラムにその半容の M/10 リン酸二ソーダ液を流下せしめた結果、通過液の pH が 6.4 以上になるにつれリボヌクレアーゼが溶出し、最終的にはそのアルカリ溶出液に 40% の回収率でリボヌクレアーゼが溶出し、而も約 5 倍の比活性の増加が認められた。上記の如くして得られたプロテアーゼ溶液及びリボヌクレアーゼ液は、それぞれ CMC-カラムクロマトグラフィー及び DEAE-カラムクロマトグラフィーを行うことにより、物理化学的に単一酵素にまで容易に純化せしめ得た。

⑦特許請求の範囲

1 炊飯に際し米及び／又は水への添加剤として枯草菌糖化型 α -アミラーゼ、リゾブス属菌グルコアミラーゼ、及びリゾブス属菌リボ核酸分解酵素を混合使用することを特徴とする、飯米の食味改善に有効な酵素剤の製造法。